

BLOTTING KÉSZÜLÉK

Dr.Földes József, Sajtos Mihály

SZOTE Klinikai Központi Mikrobiológiai Laboratórium
6720 Szeged, Somogyi Béla tér 1.

Az elektroforézissel agar- vagy poliakrilamid gélben elválasztott biológiailag aktív molekulák /fehérjék/ vagy izolált nukleinsavak /gének/ kimutatására, s a további vizsgálatokhoz szükséges izolálásra a szétválasztott termékeket nitrocelluloze, vagy nylon membránra viszik. A molekulák átvitele a membránokra történhet vagy a kapilláris szívó hatás alapján, vagy elektromos áram segítségével. Ujitásaikban mindkét technológiát megvalósítják, mert a különböző biológiai anyagok természetétől függően esetenként eltérő technikát alkalmaztak.

A kapilláris blotting berendezés elvileg is, gyakorlatilag is egyszerű megoldás. Egy szilárd hordozó lapon fekvő szűrőpapírra helyezzük a gél, amelyet nitrocellulóze, vagy nylon membránnal fednek. A membránt ezután sokrétegű szűrőpapírral borítják, a réteg vastagsága 2-4 cm között változhat. A szűrőpapír réteget ezután üveglappal fedik, melyre 1-1,5 kg súlyú nehezéket helyeznek. Az alul fekvő szűrőpapír két vége a blotting pufferba merül, melyből a szívó hatás eredményeképpen a folyadék felfelé áramlik és a gélből a biológiailag aktív molekulákat vagy géneket magával viszi. Míg a nitrocellulóze vagy nylon membránon keresztül a vívő puffer a vastag abszorbeáló szűrőpapírba áramlik, a fehérje vagy nukleinsav molekulák a membránon fennakadnak és a folyadék pedig az abszorbeáló szűrőpapír rétegben elnyelődik.

Az elektroblotting berendezésnél a gél, a nitrocellulóze vagy nylon membrán és egy szűrőpapír közé helyezik és az így előkészített gél, egy kazettába szorítják. A kazetta fala elektrolitek számára átjárható teflon, vagy más hasonló műanyag lemez. A kazettát ezután egy megfelelő puffer oldatba helyezik, amelybe egy anód és egy katód merül. A nitrocellulóze- vagy nylon membrán az anód felé tekint. Ezután kapcsolják be az áramot.

Az elektroforézis során a feszültségtől és az áramerősségtől függő idő alatt az agar vagy poliakrilamid gélből a molekulák vándorolnak és a membránon fennakadnak.